体外診断用医薬品　　　　　　　　　　　　**2009 年 11 月改訂
製品番号 6602864　　　　　　　　　　　　*2007 年 2 月改訂

承認番号 20100EZY00113000

日本標準商品分類番
877429

*T 細胞サブセットキット コールタークローン

T4-RD1

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

全般的な注意

1. 本品は、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないでください。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3. 添付文書等に記載した内容以外の方法で使用した場合には、保証しません。
4. ご使用にあたっては、測定装置の取扱説明書をよく読んでから使用してください。

形状・構造等(キットの構成)

本品は、RD1（Phycoerythrin=PE）で標識したモノクローナル抗体試薬（溶液）です。1 テストあたり以下の抗体タンパクを含有しています。

T4-RD1:　0.1～1.0μg/テスト

対象抗原:　T4:　CD4（分子量 62kD）
CD4 は、胸腺細胞の大半（約 80%）と末梢血の T 細胞の約 60%に発現しています。CD4 陽性リンパ球は、免疫応答において中心的な役割を果たしています。末梢血では、CD4 陽性リンパ球は、T 細胞とT 細胞、T 細胞とB 細胞、T 細胞とマクロファージの各々の相互作用で"インデューサー"の機能をつかさどっています。CD4 抗原分子は、標的細胞上の class-Ⅱ主要組織適合遺伝子複合体（MHC）抗原分子に結合します。

クローン:　T4:SFCI12T4D11（CD4）
ヒト末梢血 T 細胞で免疫した BALB/cJ マウスの脾臓細胞とマウス NS/1-AG4 ミエローマ細胞の融合細胞から分離

Ig 構造:　マウス IgG1 H 鎖及びκ-L 鎖

細胞毒性:　なし

原料及び精製法:　培養上清よりアフィニティクロマトグラフィで精製

標識:　RD1（Phycoerythrin＝PE）
RD1／抗体タンパク比＝0.5～1.5
励起波長:　486～575nm
蛍光波長:　568～590nm

試薬濃度:　1 バイアル（0.5mL）中の抗体以外の成分の濃度は次のとおりです。

ウシ血清アルブミン	:0.2%
リン酸カリウム	:0.01M
塩化ナトリウム	:0.15M
アジ化ナトリウム	:0.1%
スタビライザ	

使用目的

リンパ球表面抗原の分析及びインデューサー／ヘルパーT 細胞の測定

測定原理

測定方法はフローサイトメトリーを用いた直接免疫蛍光法です。すなわち、本品を T 細胞上の CD4 抗原に同時に反応させ、細胞に波長488nm の励起光を照射してオレンジ色蛍光（RD1）を発光させ、それぞれの蛍光を光電子増倍管で増幅し、その電気信号をコンピュータで解析、表示させることにより各抗体陽性細胞の計測を行ってください。

測定にはフローサイトメーターを用います。前方散乱光（FS）と側方（90°方向）散乱光（SS）によるスキャッタ・サイトグラム中の任意の領域にゲートをかけることにより、自動的に目的とする細胞集団のみを計測し、蛍光強度の解析ができます。また、解析細胞数も数千個と多いため、高精度で再現性の良い結果が得られます。

操作上の注意

1. 抗凝固剤としては、EDTA、ヘパリン等を用いることができますが、いずれの場合でも採血後は室温で保存（冷蔵しないでください）し、6 時間以内に染色することをお勧めします。特に白血病細胞等では、保存によって急激に陽性率の低下を来たす場合がありますので注意してください。
2. 静脈血検体の場合、細胞のバイアビリティ（生存率）は 90%以上が理想的ですが、異常検体ではこれを下回ることがあります。
3. 凍結検体の場合、細胞のバイアビリティが 85%以上でないと、誤った結果が得られるおそれがあります。
4. Ficoll-Paque 調製サンプルを用いる場合、分離条件により結果が異なることがあります。分離後の細胞が Ficoll-Paque 分離液に長時間接触するとバイアビリティが低下するため、分離後は 5 分以内に洗浄してください。
5. 全血検体を Ficoll-Paque 等で比重遠心分離した場合、分離して得られた単核細胞と分離前の全血検体とでリンパ球サブセットの比率が異なることがあります。この場合、白血球数が正常範囲内にあるような検体では比較的影響が少ないが、白血球減少症患者の検体では、特定のサブセットの選択的な喪失が測定結果の精度に影響を及ぼすことがあります。
6. 白血球の大きさが異常な検体や分離の操作が不適切な場合は、分離が不完全となることがあります。分離後、明瞭な単核球層が認められなかったり、赤血球、赤血球破片、成熟顆粒球が多量に混入している場合は、分離をやり直すことをお勧めします。
7. Fc レセプタを介した抗体の非特異的結合が予想される検体の場合は、抗体試薬を反応させる10～15分前に、ヒトまたはマウスのγ-グロブリンを加えます（終濃度 1mg/mL）。
8. 全血法の場合、溶血不良となるおそれがあるため、検体を試験管に分注する際は試験管の口や壁面に検体を付けないよう注意してください。付着した血液は、綿棒等で取り除いてください。
9. 有核赤血球、蛋白濃度の異常、ヘモグロビン合成異常などがみられる検体は、全血法で赤血球の溶血が不完全となることがあります。この場合、溶血していない赤血球をリンパ球としてカウントするために陽性率が実際よりも低くなるおそれがありますので注意してください。
10. 溶血時間が長すぎると白血球も影響を受けることがあります。
11. コールタークローン T4-RD1 は、フローサイトメトリー用に調整されているため、蛍光顕微鏡用には用いないでください。
12. フローサイトメーターのレーザ光軸などの調整不良や不適切なゲート設定により、誤った結果が得られる場合があります。
13. 単球は CD4 を弱く発現しており、T4 陽性となります。したがって、リンパ球ゲート内への単球の混入が著しい場合、T4 陽性率は高くなります。多くの場合、T4 蛍光強度の違いによって、CD4 陽性 T 細胞と単球を区別できます（T 細胞の CD4 蛍光強度＞単球の CD4 蛍光強度）。
14. 白血球中の特定の細胞集団の変動は、必ずしも病態と一致しないため、測定結果は他の臨床及び診断データと共に使用します。
15. 測定結果の解釈を行う場合には、測定条件及び供血者の年令、性別、喫煙習慣等の影響も考慮してください。
16. モノクローナル抗体反応液の調製にあたっては、用法・用量を守り、過剰な希釈は行わないでください。正常検体では問題ない抗体濃度でも白血病検体等では陽性率の低下を来たす場合があります。

用法・用量（操作方法）

【試薬の調製】

＜他に準備するもの＞

蒸留水

血清加 PBS:　PBS に次の試薬を溶解します。2～8℃で保存します。

NBS（新生仔ウシ血清）	2%
{または BSA（ウシ血清アルブミン）	0.1%}
アジ化ナトリウム	0.1%

<コールタークローン T4-RD1>

使用時に検体数に応じて必要量(1 検体あたり 5μL)の抗体試薬を分取し、抗体試薬 5μL につき 195μL の血清加 PBS を加えたものをモノクローナル抗体反応液として用いてください。モノクローナル抗体反応液は使用時に調製し、保存は避けてください。

【その他必要な試薬】

1. PBS(リン酸緩衝生理食塩水)

PBS バッファ(製品番号 6603369)1 パックを蒸留水 500mL に溶解します。調製後の pH は 7.2±0.2 で、防腐剤等は含んでいません。必要に応じてアジ化ナトリウム(0.1%)等を添加します。

2. 溶血剤(次の 1)、2)のいずれかを使用します)

1)コールター全血ライジングキット(製品番号 6603152 300 テスト用)

PBS 24mL にイムノライズ*1mL を加えます。
フィクサティブ**はそのまま使用します。

* イムノライズ:キット中の溶血試薬
** フィクサティブ:キット中の固定剤
(医薬用外劇物:ホルムアルデヒドを 9.25%含有)

2)塩化アンモニウム溶血剤

蒸留水 1L に以下の試薬を溶かします。

塩化アンモニウム	8.26g
炭酸カリウム	1.0g
EDTA 4Na(または 2Na)	37mg

pH を 7.2〜7.4 に調整し、密栓して室温保存します(1週間安定)。

注意:1)、2)の各溶血剤は溶血に要する時間が異なります。コールター全血ライジングキットは 30 秒〜2 分で溶血が完了します。一方、塩化アンモニウム溶血剤は溶血に 10〜15 分必要ですが、細胞に与える作用は比較的緩徐で、溶血剤のまま 20〜30 分放置しても結果に及ぼす影響は少ないとされています。

3. コントロール試薬(アイソタイプ・コントロール抗体)

コールタークローン MslgG1-RD1 (T4-RD1 用)
製品番号 6602884 容量 100 テスト(溶解時 0.5mL)

4. Propidium Iodide

Calbiochem 製品番号 53705 または相当品
0.01mg/mL または 0.05mg/mL に調整して使用します。

5. Acridine orange

Baker 製品番号 A366-3 または相当品
0.005mg/mL で使用します。

6. Ficoll-Paque 分離液

Pharmacia 製品番号 17-0840-03 または相当品

【検体の採取と調製】

検体には、EDTA、ヘパリン等の抗凝固剤で採血した末梢血を用います。

1. 全血を検体とする場合

試験管 1 本につき 100μL の血液を用います。
染色に最適な白血球数の範囲は $3〜10×10^3$ 個/mm^3 であるため、白血球数が $10×10^3$ 個/mm^3 を超える場合は検体を希釈します。逆に $3×10^3/mm^3$ より少ない場合は、遠心して再浮遊させます。検体の希釈にはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)を用います。

注)検体は採血後室温(20〜25℃)で保存します。採血後 6 時間以内に操作を開始することをお勧めします。

細胞数の調整

a) 白血球数が多い検体(>$10×10^3$ 個/mm^3)

白血球数		希釈倍率
10〜20	$×10^3$	: 2 倍
20〜30	$×10^3$	: 3 倍
30〜40	$×10^3$	: 5 倍
40〜60	$×10^3$	: 6 倍
60〜100	$×10^3$	:10 倍
100〜200	$×10^3$	:20 倍

b) 白血球数が少ない検体(<$3×10^3$ 個/mm^3)

バフィーコート法

1) 検体を 25℃で 500×g、5 分間遠心します。
2) 白血球の層をパスツールピペットで採取します。この際、すべての白血球を確実に回収するため赤血球及び血漿も一部回収します。
3) 数回ピペッティングして、十分に懸濁させます。
4) コールターLH 700 シリーズ等のヘマトロジーアナライザーや血球計算板を用いて細胞濃度を測定します。
5) 細胞濃度を $10×10^3$ 個/mm^3 に調整します。1 テストあたり 100μL を用い、以下の操作手順に従って処理してください。

2. Ficoll-Paque 調製サンプルを検体とする場合

1) 試験管に血液(抗凝固剤を含む)を 4mL 取り、ほぼ等量の PBS を加え、転倒混和します。
2) 別の試験管に Ficoll-Paque 分離液を 4mL 入れ、その上に(1)の希釈血液を重層します。
3) 2〜8℃で 400〜450×g、30 分間遠心分離します(遠心条件は分離液によって異なります)。
4) Ficoll-Paque 分離液と血漿の間の層をパスツールピペットで取り、別の試験管に移します。
5) 2〜8℃の PBS を加えてよく撹拌し、2〜8℃で 400〜450×g、8 分間遠心分離します。
6) 上清を吸引除去し、沈渣に PBS を加えてよく撹拌します。
7) 2〜8℃で 400〜450×g、4 分間遠心分離します。
8) 上清を吸引除去し、沈渣に PBS を加えてよく撹拌します。
9) 2〜8℃で 400〜450×g、3 分間遠心分離します。
10) 上清を吸引除去し、沈渣に PBS を加えて細胞濃度を $1×10^3$ 個/mm^3($1×10^6$ 個/mL)程度に調整します。
11) 以下の a)または b)の方法を用いて、細胞のバイアビリティ(生存率)をチェックします。バイアビリティは 90%以上が理想的ですが、異常検体ではこれを下回ることがあります。

a) フローサイトメトリー法によるバイアビリティの確認

12) 試験管に $1×10^6$ 個(細胞濃度が $1×10^3$ 個/mm^3 の場合 1mL の細胞を分注します。
13) 2〜8℃の PBS を加え、2〜8℃で 400〜450×g、4 分間遠心分離します。
14) 上清を吸引除去し、0.05mg/mL の Propidium Iodide を 3 滴加えて撹拌し、1 分間放置します。
15) 2〜8℃の PBS を加えて撹拌し、2〜8℃で 400〜450×g、4 分間遠心分離した後、上清を吸引除去します。
16) (15)を再度繰り返します。
17) フローサイトメーターで測定します。バイアビリティが 85%未満の場合は、サンプルの調製をやり直すことをお勧めします。

b)蛍光顕微鏡法によるバイアビリティの確認

12) スライドグラスに 25,000 個(細胞濃度が $1×10^3$ 個/μL の場合、25μL)の細胞を載せます。
13) Propidium Iodide(0.01mg/mL)を 10μL 載せ、マイクロピペットのチップの先で静かに撹拌します。
14) 30 秒間放置した後、Acridine orange(0.005mg/mL)を 10μL 載せ、マイクロピペットのチップの先で静かに撹拌して 3 秒間放置します。
15) カバーグラスをかけ、周囲をストップコック・グリスでシールし、ただちに蛍光顕微鏡で観察します。
16) 細胞を 100 個カウントします。生細胞は明るい緑色に、死細胞は赤色に観察されます。バイアビリティが 85%に満たない場合は、サンプルの調製をやり直すことをお勧めします。

【操作方法】

<他に準備するもの>

PBS、溶血試薬、コントロール試薬:「使用上または取扱上の注意」の項を参照してください。

血清加 PBS: PBS に次の試薬を溶解します(2〜8℃保存)。

NBS(新生仔ウシ血清)	2%
{または BSA(ウシ血清アルブミン)	0.1%}
アジ化ナトリウム	0.1%

再浮遊用 PBS: PBS にアジ化ナトリウムを 0.1%溶解します。(2〜8℃保存)

<サンプル調製手順>

1. 全血サンプルを用いた試験管法(全血法)

1) モノクローナル抗体反応用と対照用の試験管を用意します。
2) それぞれの試験管に全血 100μL を分注します。管壁に付着

した血液は綿棒等で拭き取ります。

3） モノクローナル抗体反応液 200μL を反応用の試験管に加えます。対照用の試験管には、抗体試薬と同様に濃度調製したコントロール試薬（コールタークローン MSlgG1-RD1、別売）の反応液を 200μL 加えます。
4） よく撹拌し、室温で 45 分間反応させます。
5） PBS を 2～3mL 加えて撹拌し、400～450×g、5 分間遠心分離した後、上清を吸引除去します。
6） 以下の a)、b)のいずれかの方法で赤血球を溶血させます。

a) 塩化アンモニウム溶血剤を用いる場合
調製した溶血剤 2mL を加えてよく撹拌し、溶血が完了する（サンプルの濁りが消える）まで 5～15 分間常温で放置します。

b) コールター全血ライジングキットを用いる場合
溶血剤（キット中の「イムノライズ」を PBS で 25 倍希釈）を 1mL 加えてよく撹拌し、30 秒～2 分間室温で放置します。溶血が完了（サンプルの濁りが消える）したら、直ちにキット添付の「フィクサティブ」を 250μL 加えて撹拌します。

7） PBS を 2mL 加え、撹拌します。
8） 400～450×g、5 分間遠心分離した後、上清を吸引除去します。
9） （7）～（8）の操作を繰り返します。
10） 沈渣に適量（0.5～1mL）の再浮遊用 PBS を加え、よく撹拌します。
11） 以上の処理を行なった後、EPICS® /Cytomics 等のフローサイトメーターを用いてリンパ球領域の蛍光陽性率を測定します。検体はアイスバス中で遮光保存し、速やかに測定を行ってください。

2. Ficoll-Paque 調製サンプルを用いた試験管法

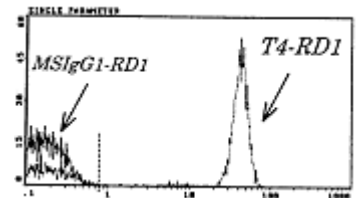
1） 抗体反応用と対照用に 12mmφx75mm の試験管を用意します。
2） 各々の試験管に Ficoll-Paque 調製サンプルを 1×10^6 個（細胞濃度が 1×10^3 個/mm^3 の場合 1mL）ずつ分注します。
3） 2～8℃で 400～450×g、4 分間遠心分離し、上清を注意深く吸引除去します。
4） モノクローナル抗体反応液 200μL を反応用の試験管に加えます。対照用の試験管には、抗体試薬と同様に濃度調製したコントロール試薬（コールタークローン MSlgG1-RD1、別売）の反応液を 200μL 加えます。
5） よく撹拌し、2～8℃で 30 分間反応させます。
6） 血清加 PBS 1mL を加え、2～8℃で 400～450×g、4 分間遠心分離し、上清を吸引除去します。
7） （5）の操作を 2 回繰り返します。
8） 適量（0.5～1mL）の再浮遊用 PBS を加え、よく撹拌します。
9） 以上の処理を行った後、EPICS/Cytomics 等のフローサイトメーターまたは蛍光顕微鏡を用いて測定します。検体はアイスバス中で遮光保存し、速やかに測定を行ってください。

3. Ficoll-Paque 調製サンプルを用いたマイクロタイタープレート法

1） あらかじめ 1×10^6 個/200μL に調整した Ficoll-Paque 調製サンプルを U 底 96 穴マイクロタイタープレートに 200μL 分注します。
2） プレートを 2～8℃で 400～450×g、5 分間遠心分離します。
3） ペレットを壊さないように注意して上清を吸引除去します（先端を少し曲げたパスツールピペットを用いてください）。
4） プレートにふたをして、プレートの底にボルテックスミキサの先端をあてて、プレートの隅々までゆるやかにかつ十分に撹拌し、ペレットをほぐします。
5） モノクローナル抗体反応液 200μL を反応用のウエルに加えます。対照用のウエルには、抗体試薬と同様に濃度調製したコントロール試薬（コールタークローン MSlgG1-RD1、別売）の反応液を 200μL 加えます。
6） 2～8℃で 30 分間反応させます。
7） プレートを 2～8℃で 400～450×g、5 分間遠心分離します。
8） （3）及び（4）の操作を行います。
9） 血清加 PBS を 200μL 加え、2～8℃で 400～450×g、5 分間遠心分離します。
10） （3）及び（4）の操作を行います。
11） 再浮遊用 PBS を 200μL 加え、適当な試験管に移し、EPICS /Cytomics 等のフローサイトメーターまたは蛍光顕微鏡を用いて測定します。

測定結果の判定方法

1. 正しく調整し、適切にゲートをかけたフローサイトメーターを用いて細胞を測定します。
2. 全血サンプルの場合は、明瞭な三分画（リンパ球、単球、顆粒球領域）、Ficoll-Paque 調製サンプルの場合は、適切な位置にリンパ球集団が出現するようにスレッショルドと散乱光のゲインを調整します。
3. リンパ球領域に解析ゲートを設定し、RD1（PE）蛍光（Log スケール）の 1 パラメータ蛍光ヒストグラムを取得します。
コントロール試薬を対照として設定されたカーソルの右側部分が、CD4 陽性細胞となります。

図　ヒストグラム例（全血法、リンパ球領域にゲート設定）

【測定条件の確認】

測定条件が正しいかどうかを確認するには、CYTO-TROL（精度管理用陽性コントロール細胞、製品番号 6604248）または健常者検体を陽性コントロールとします。正常値は施設ごとに設定してください。

Fc レセプタを介した単球、顆粒球に対する非特異結合はリンパ球領域を正しくゲーティングすることで除外できます。

検体ごとに抗体の非特異的な Fc 結合を確認するために、適切なアイソタイプ・コントロール試薬（コールタークローン MSlgG1-RD1）を用いてください。健常者検体の場合、コントロール試薬の陽性率は通常 1～2%となります（2%を上回る場合、測定結果は誤差を含んでいるおそれがあります）が、腫瘍検体ではより高い値を示すことがあります。

臨床的意義

免疫機構の機能的中心であるリンパ球のうち、T 細胞は骨髄中の幹細胞を起源とし、胸腺における機能的成熟過程をへて末梢血、組織に出現します。T 細胞はその分化成熟段階に、あるいは機能的サブセットに特有の細胞表面抗原を有しています。コールタークローン モノクローナル抗体はこのような細胞表面抗原を検出することによって免疫機構をさらに詳しく解明する目的で、Harvard Medical School の Dr.S.F.Schlossman の研究グループと Coulter Immunology によって共同開発されました。

ヒト末梢血リンパ球ポピュレーションは T 細胞（胸腺由来）、B 細胞（骨髄細胞）、ヌル細胞の 3 つの細胞タイプから成ります。これらの細胞タイプは、顕微鏡検査では形態学的に区別できませんが、細胞膜上の特有な抗原の違いによって同定が可能です。

T 細胞及び B 細胞は免疫機能の中心的役割を果たしています。種々の T 細胞サブタイプが特異的抗原を認識して、エフェクタ機能を発揮したり、細胞性／体液性免疫応答を調節しています。抗原特異的な B 細胞は、T 細胞を介した、抗原やマクロファージによる活性化の過程で、抗原特異的な免疫グロブリン（Ig）を産生・分泌する形質細胞へと分化します。

過去には、T 細胞と B 細胞は、それぞれヒツジ赤血球に対するレセプタ（E-ロゼット）と細胞膜免疫グロブリン（Smlg）により同定、計数されていました。E-ロゼット法は、T 細胞に特異的であるものの、光学顕微鏡下でヒツジ赤血球と T 細胞の結合を観察し、細胞数を数えねばなりません。

Smlg の測定による B 細胞の同定・算定も、他の細胞集団に Ig の Fc 部分に対するレセプタに結合した Ig による Smlg 偽陽性がみられるため、精度に限界があります。

さらに近年、T 細胞及び B 細胞を同定するためのモノクローナル抗体が開発されました。従来の比較的特異性の低いポリクローナル抗体（異種抗血清）に比べ、モノクローナル抗体は各々が異なる T 細胞及び B 細胞の表面抗原を特異的に認識します。これにより、正確で確実なリンパ球測定だけでなく、他の細胞マーカー（TdT、HLA-DR 関連抗原、Smlg）と組み合せて、T 細胞及び B 細胞分化段階の同定も行うことができます。

細胞表面抗原は、細胞の成熟（分化）段階や機能を反映する形で、T 細胞、B 細胞上に発現あるいは消失しています。ある抗原が発現した

細胞には、他の表面抗原もその一部または全部が様々な期間発現しています。

Tリンパ球における”Pan-T細胞”抗原は、CD7（前胸腺細胞〜）、CD2、CD5、細胞質内 CD3（未熟胸腺細胞〜）、細胞表面 CD3（成熟胸腺細胞〜）の順に発現していきます。これに伴って、CD4 と CD8 の同時発現及び CD1a 発現（中間型胸腺細胞）とその後の CD4 または CD8 の単独発現（成熟胸腺細胞〜）がみられます。CD2、CD3、CD5、CD7と CD4、CD8 は、末梢血やリンパ組織中の休止期及び活性化 T 細胞など、それ以降の全分化段階を通して発現が継続します。

B 細胞における”pan-B 細胞”抗原は、CD19（B 前駆細胞／pre-pre-B 細胞）；CD20（pre-B 細胞）という順序で発現していきます。CD19、CD20 ともに、一度発現した後、休止期及び活性化 B 細胞やリンパ組織 B 細胞を含む成熟 B 細胞の分化段階まで発現が継続します。どちらも B 細胞分化の最終段階である形質細胞で消失します。CD21 や CD22 は、末梢血またはリンパ組織の成熟 B 細胞の活性化に伴い消失する「限定 B 細胞表面抗原」です。細胞表面の CD22 発現より早い段階（pre-pre-B 細胞）で、細胞質内に CD22 が検出されます。

T 細胞は、細胞の機能と細胞表面抗原の違いによって、”インデューサー／ヘルパーT細胞”（CD4＋）と”サプレッサー／細胞障害Ｔ細胞”（CD8＋）の 2 群に分けることができます。本品は、”インデューサー／ヘルパーT 細胞”抗原である CD4 に特異的に結合する T4 モノクローナル抗体によって、末梢血の CD4 陽性 T 細胞数を測定します。

T4

CD4 陽性リンパ球数の異常を確認することは、無ガンマグロブリン血症や胸腺無形成（DiGeorge 症候群）、重症複合型免疫不全（SCID）、後天性免疫不全症候群（AIDS）などの免疫不全症の診断や予後判定に有用です。

AIDS の病原体であるヒト免疫不全ウィルス（HIV）に感染すると、HIV のレセプタ（CD4 抗原分子そのもの）を発現している CD4 陽性リンパ球が選択的に死滅することにより免疫抑制が起こります。臨床上、免疫学上の異常の進行は、一般に CD4 陽性リンパ球数の減少と相関しています。

T4/T8

疾病に関連した CD4 もしくは CD8 陽性リンパ球数の変化は、CD4／CD8（T4/T8）比、すなわちインデューサー／ヘルパーT 細胞とサプレッサー／細胞障害性Ｔ細胞の比の変化をもたらします。したがって、T4/T8 比は診断及び免疫機能の予後指標として有用です。

T4/T8 比及び CD4 陽性リンパ球数は、ARC（AIDS-related complex）及び AIDS の判定に最も広く用いられている検査項目です。進行した AIDS 患者では、CD4 陽性リンパ球数が検出限界未満になるとともに、T4/T8 比が 0（ゼロ）に近づきます。このような症例では、CD8 陽性リンパ球数は正常、増加、あるいは減少と様々です。

T4/T8 比及び CD4 陽性リンパ球、CD8 陽性リンパ球の変動は、多発性硬化症（MS）、全身性エリテマトーデス（SLE）などの自己免疫疾患でも認められています。T4/T8 比の増加と CD4 陽性リンパ球数及び CD8 陽性リンパ球数の低下が、進行期（活動期）の MS 患者で認められています。SLE では、リンパ球の変動パターンは、疾患の活動性とともに進行に伴う臓器障害の程度をも反映しています。CD4 陽性率の上昇に伴う T4/T8 比の高値が、リンパ腺症を含む全身症状があるが腎障害をほとんど認めない活動期及び非活動期の SLE 患者でみられています。CD8 陽性率の低下による T4/T8 比の高値も、同様の活動期 SLE 患者で報告されています。さらに、CD4 陽性率の高値と CD8 陽性率の低値が、中枢神経障害があるが腎障害のみられない活動期 SLE 患者で認められています。対照的に、CD4 陽性率の低下に伴う T4/T8 比の低値が、重症の腎障害と血小板減少症を来たした活動期及び非活動期の SLE 患者で認められています。その他の活動期及び非活動期 SLE 患者でも CD4 陽性率の低値と CD8 陽性率の高値が報告されています。腎障害と中枢神経障害の両方を含む多臓器型の SLE 患者では、T4/T8 比が正常範囲となっています。

T4/T8 比の高値は、胸腺無形成症の患者でもみられます。

T4/T8 比に有意な変動をきたさない程度の CD4 陽性率の減少と CD8 陽性率の増加が、腎移植後の腎機能が安定している時期の患者で観察されています。さらに T4/T8 比の低下と CD4 陽性率の減少は、自家骨髄移植後の造血系再構築の過程でも認められています。

性能

【特異性】

T4 モノクローナル抗体は、白血球分化抗原に関する国際ワークショップにおいて CD4 抗体として認定されています。
T4 抗原は、胸腺細胞の大半（約 80%）と末梢血の T 細胞の約 60%に発現しています。また、単球も T4 が弱陽性となります。

本品はロットごとのスクリーニングで、B 細胞系の培養細胞株（バーキットリンパ腫由来、CD20 陽性率が 85〜100%）に交差反応しないことが確かめられています。

【再現性】

本品で、健常者末梢血を 3 回以上繰り返し測定したとき、陽性率の変動係数（%CV）はいずれも 5%以下です。

使用上または取扱上の注意

1. 本品は、アジ化ナトリウムを 0.1%（液状品及び凍結乾燥品の溶解時の濃度）含んでいます。アジ化ナトリウムは酸性下で有毒なアジ化水素酸を産生するので、取り扱いには十分注意してください。また、アジ化物が金属性の排水管内に蓄積することによる爆発の危険性を避けるため、アジ化物の廃棄は多量の流水で希釈して行ってください。
2. 有効期限を過ぎた試薬を使用しないでください。
3. 検体及び検体に触れた器具類は感染の危険性があるものとして取り扱い、適切な表示及び処理をした後に廃棄してください。
4. ピペットを口で吸引しないでください。皮膚や粘膜への検体の接触を避けてください。
5. 保管及びサンプル調製中に抗体試薬を強い光にさらさないでください。
6. 試薬が微生物に汚染されないよう注意してください。

貯法、有効期限、安定性

1. 未開封の製品は、冷蔵（2〜8℃）で保存した場合に、各バイアルに明記してある有効期限まで使用できます。
2. コールタークローン T4-RD1 は 2〜8℃で保存してください（凍結不可）。
3. 本品を長時間光にさらすことは避けてください。すべての試薬は使用する前に室温（20〜25℃）に戻してください。
4. 試薬の外観に変化がみられたりコントロール検体による測定値に大きな変化がある場合は、試薬の劣化が考えられますので使用しないでください。試薬の正常な外観は無色またはピンク色がかった透明な液体です。

包装単位

コールタークローン T4-RD1
製品番号 6602864　容量 100 テスト（0.5mL）

主要文献

1. McMichael, AJ ed: Leukocyie Typing lll, White Cell Differentiation Antigens: 1987. Oxford: Oxford University Press, p 202, 206.
2. Reinherz, EL and Schlossman, SF: 1980. The differentiation and function of human T Iymphocyles. Cell 19: 821-827.
3. Aiuta F Cerottini .J-C, Coombs RRA, Cooper M, Dickler HB, Froland S, Fudenberg HH, Greaves MF, Grey HM, Kunkel HG, Natvig J, Preud'homme .J-L, Rabellino E, Ritts RE, Rowe DS, Seligmann M, Siegal FP, Stjernsward J, Terry WD and Wybran J: 1975. ldentification, enumeration and isolation of B and T Iymphocyies from human peripheral blood. International Union of Immunological Societies （IUIS）, Report - July 1974. Clin Immunol and Immunopathol 3: 584-597
4. Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM and Bernstein ID: 1986. Leukocyle Typing ll. NewYork: Springer-Verfag. Vol2, p.8, 15-20, 37.
5. Reinherz. EL Meuer, SC and Schlossman, SF: 1983. The delineation of antigen receptors on human T lymphocyles. Immunol Today 4: 5-8.
6. Reinherz. EL, Morimoto, C, Fiizgerald, KA, Hussey, RE, Daley, JF and Schlossman, SF: 1982. Heterogeneity of human T4+ inducer T cells defined by a monoclonal antibody that delineates two functional subpopulations. J Immunol 128: 463-468.
7. de Martini. RM and Parker, JW: 1989. Immunologic alterations in Human immunodeficiency virus infection: A review. J Clin Lab Anal 3: 56-70.
8. Morimoto, C, Letvin, NL, Distaso, JA, Aldrich, WR and Schfossman, SF: 1985. The isofatfon and characterization of

the human suppressor inducer T cell subset. J Immunol 134: 1508-1515.
9. Morimoto, C, Letvin, NL, Distaso, JA, Brown, HM and Schlossman, SF: 1986. The cellular basis for the induction of antigen-specific T8-suppressor cells. Eur J lmmunol 16: 198-204.
10. Meuer, SC, Schlossman, SF and Reinherz. EL: 1982. Clonal analysis of human cyiotoxic T Iymphocyies: T4+ and T8+ effector T cells recognize products of different major histocompatibility regions Proc Natl Acad Sci USA 79: 4395-4399.
11. Reinherz, EL, Cooper, MD and Schfossman, SF: 1981. Abnormalities of T cell maturation and regulation in human beings with immunodeficiency disorders, J Clin Invest 68: 699-705.
12. Schmidt, RE: 1989. Monoclonal antibodies for diagnosis of immunodeficiencies. Blut 59:200-206.
13. Fauci, AS: 1988. The human immunodeficiency virus: infectivity and mechanism of pathogenesis. Science 239:617-622.
14. Taylor, MGJ, Fahey, JL, Detels, R and Giorgi, JV: 1989. CD4 percentage, CD4 number and CD4:CD8 ratio in HIV infection: How to choose and how to use. J AIDS 2: 114-124.
15. Morimoto, C, Hafler, DA, Weiner, HL, Letvin, NL, Hagan, M, Daley, J and Schlossman, SF: 1987. Selective loss of the suppressor-inducer T-cell subset in progressive multiple scferosis. Analysis with anti-2H4 monocfonal antibody. N Engl J Med 316:67-72.
16. Reinherz. EL, Weiner, HL, Hauser. SL, Cohen, JA, Distaso, JA and Schlossman, SF: 1980. Loss of suppressor T cells in active multiple sclerosis. Analysis with monoclonal antibodies. N Engl J Med 303: 125-129.
17. Weiner, JL, Hafler, DA. Fallis, RJ, Johnson, D, Ault, KA and Hauser, SL: 1984. Altered blood T-cell subsets in patients with multiple sclerosis. J Neuroimmunol 6: 115-121 .
18. Smolen, JS, Chused, TM, Leiserson, WM, Reeves, JP, Alling, DW and Steinberg, AD: 1982. Heterogeneity of immunoregulatory T cell subsets in systemic lupus erythematosus. Am J Med 727:783-790.
19. Smolen, JS, Morimoto, C, Stetnberg, AD, Wolf. A, Schlossman SF, Steinberg, RT, Penne, E, Reinherz. EL. Rerchlin, M and Chused, TM: 1985. Systemic lupus erythematosus:delineation of subpopulations by clinical, serologic and T cell maTker analysis. Am J Med Sci 289: 139-147.
20. Morimoto, C Reinherz, EL, Schlossman, SF, Shur, PH, Mills, JA and Steinberg. SD: 1980. Alterations in immunoregulatory T cell subsets in active systemic lupus erythematosus. J Clin Invest 66: 1171-1174.
21. Raziuddin, S, Nur, MA and Alwabel, AA: 1989. Selective loss of the CD4+ inducers of suppressor T cell subsets（2H4+） in active systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 16: 1315-1319.
22. Sato, K, Miyasaka, N, Yamaoka, K, Okuda, M. Yata, J and Nishioka. K: 1987. Quantitative detect of CD4+2H4+ cefls in systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome. Arthritis Rheum 30: 1407-1411.
23. Ramos. EL, Turka, LA, Leggat. JE, Wood, IG, Milford, EL and Carpenter, CB: 1989. Decrease in phenotypically defined T helper inducer celfs (T4+4B4+) and increase in T suppressor effector calls (T8+2H4+) in stable renal allograft recipients. Transplantation 47: 465-471.
24. Pedrazzini, AS. Freedman, AS, Andersen, J, Heftin, L, Anderson, K, Takvorian, R, Canellos, GP, Whitman, J, Coral, F, Ritz, J and Nadler, LM: 1989. Anti-B cell monoclonal antibody purged autologous bone marrow transplantation for B-cell non-Hodgkin's lymphoma: Phenotypic reconstitution and B-cell function. Blood 74: 2203-2211.
25. Reinherz. EL, Kung, PC, Goldstein, G and Schlossman, SF: 1979. A monoclonal antibody with selective reactivity with functionally mature human thymocytes and all peripheral human T cells. J Immunol 123: 1312-1317.
26. Reinherz. EL, Haynes, BF, Nadler, LM and Bernstein, ID, eds: Leukocyte, Typing Ⅱ , Human T Lymphocyies: 1986. New York: Springer-Verlag, p 8-9.
27. Koepke JA and Landay AL. Precision and accuracy of absolute lymphocyie counts. Clin Immunol Immunopathol, 1989; 52:19-27.

＊＊問い合わせ先

ベックマン･コールター株式会社
〒135-0063　東京都江東区有明三丁目５番７号　TOC 有明ウエストタワー
TEL：0120-566-730　FAX：03-5530-2460

＊＊製造販売元

ベックマン･コールター株式会社
〒135-0063　東京都江東区有明三丁目５番７号　TOC 有明ウエストタワー